

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 605—610, November 1970

Gesamtthyroxin im Serum

(Vergleichsuntersuchungen mit drei Methoden)

Von J. HERRMANN¹⁾, A. BRASE²⁾, H. DE MARÉES³⁾ und H. L. KRÜSKEMPER¹⁾

Medizinische Hochschule Hannover

(Eingegangen am 23. 7. 1970)

3 Methoden zur Bestimmung des Gesamtthyroxins im Serum werden hinsichtlich Richtigkeit und Präzision miteinander verglichen. Die praktische Bewährung der drei Tests wurde anhand von 179 Seren überprüft.

Die Errechnung des Gesamt- T_4 aus dem $PB^{127}I$ (T_4 -PBI) ergab sowohl „in Serie“ als auch „von Tag zu Tag“ mit Variationskoeffizienten von 3,5 bzw. 3,1% die beste Präzision. Auch bei der Prüfung der Richtigkeit zeigte sich für das T_4 -PBI die beste Korrelation zwischen Beobachtung und Erwartung ($r = 0,9972$). Der Nachteil der Methode liegt in der fehlenden Spezifität für Thyroxin.

Bei der direkten Bestimmung des Gesamtthyroxins nach der Isotopenverdünnungsmethode von MURPHY und PATTEE (T_4 -M) lag der Variationskoeffizient als Maß der Präzision doppelt so hoch wie beim T_4 -PBI. Die Richtigkeit erfüllte mit einem $r = 0,989$ die üblichen Anforderungen an ein klinisch-chemisches Verfahren. Vorteil des Isotopenverdünnungsprinzips ist seine absolute Spezifität für Thyroxin. Die Bestimmungskapazität entspricht mit 100 Seren/5 Stdn. etwa der Leistungsfähigkeit der automatischen PBI-Bestimmung.

Eine kommerzielle Modifikation der MURPHY-PATTEE-Methode (*Tetrasorb-Abbott-Test*; T_4 -T) erwies sich sowohl hinsichtlich der Präzision (VK = 15,8 bzw. 11,6%) als auch der Richtigkeit ($r = 0,963$) als den beiden anderen Verfahren unterlegen. Besonders im Meßbereich über 12 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ Thyroxin waren Präzision und Genauigkeit unbefriedigend.

The measurement of the total thyroxin in serum (a comparison of three methods)

Three methods for the determination of total serum thyroxin were compared with respect to accuracy and precision in trials involving 179 sera.

The calculation of total T_4 from the $PB^{127}I$ (T_4 -PBI) gave the best precision with variation coefficients of 3.5 and 3.1% "in series" and from "day to day" respectively. In the test of accuracy, the T_4 -PBI also gave the best correlation between observed and expected ($r = 0.9972$). The disadvantage of the method is its lack of specificity for thyroxin.

In the direct determination of total thyroxin by the isotope dilution method of MURPHY and PATTEE (T_4 -M), the variation coefficient, as a measure of precision, was twice as high as for T_4 -PBI. The accuracy, with $r = 0.989$, satisfied the normal requirements of a clinical chemical method. The advantage of the isotope dilution method is its absolute specificity for thyroxin. The through-put is 100 sera/5 hr, which is about the same as for the automatic PBI determination.

A commercial modification of the MURPHY-PATTEE method (*Tetrasorb-Abbott-Test*; T_4 -T) was inferior to the other two methods both in precision (VC = 15.8 and 11.6%) and accuracy ($r = 0.963$). Precision and accuracy were especially unsatisfactory above 12 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ thyroxin.

Die Bestimmung der Schilddrüsenhormonkonzentration im Serum wird als die wertvollste labortechnische Hilfe angesehen, Aufschlüsse über die Funktion der Schilddrüse zu erlangen. Seit langer Zeit hat die Bestimmung des proteingebundenen Jods ($PB^{127}I$)⁴⁾ in dieser Hinsicht einen festen Platz. Darüber hinaus ist es neuerdings möglich, die mangelnde Spezifität der Hormonjodbestimmung für Schilddrüsenhormon nach Entwicklung einer für Thyroxin spezifischen Methode zu umgehen; das zuerst von EKINS (1) als Sättigungsanalyse beschriebene und auf dem Prinzip der Radioisotopenverdrängung beruhende Verfahren wurde vor allem von MURPHY und PATTEE (2, 3) so weit vervollkommen und vereinfacht, daß Routinebestimmungen in ausreichender Zahl möglich wurden. Seit kurzem werden kommer-

zielle, fertige Testsätze (z. B. Tetrasorb-ABBOTT) für die Messung des Gesamtthyroxins angeboten, die ebenfalls auf dem Prinzip der Isotopenverdrängung beruhen, sich aber in der Durchführung der Bestimmung von der Originalmethode von MURPHY und PATTEE (3) unterscheiden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die mit 3 Methoden

1. Gesamt- T_4 ⁴⁾ aus dem $PB^{127}I$ errechnet (T_4 -PBI);
2. Gesamt- T_4 nach MURPHY und PATTEE (T_4 -M);
3. Gesamt- T_4 nach Tetrasorb-Test (T_4 -T)

gewonnenen Ergebnisse hinsichtlich Richtigkeit und Präzision zu vergleichen, und die praktische Bewährung der drei Tests anhand von 179 Seren (131 Euthyreosen, 33 Hyperthyreosen, 15 Hypothyreosen) zu überprüfen.

Methoden und Material

Das $PB^{127}I$ wurde mit der AutoAnalyzcr-Methode unter Verwendung von Amberlite-IRA 401 (200 mg/2 ml) als Ionenaustauscherharz gemessen.

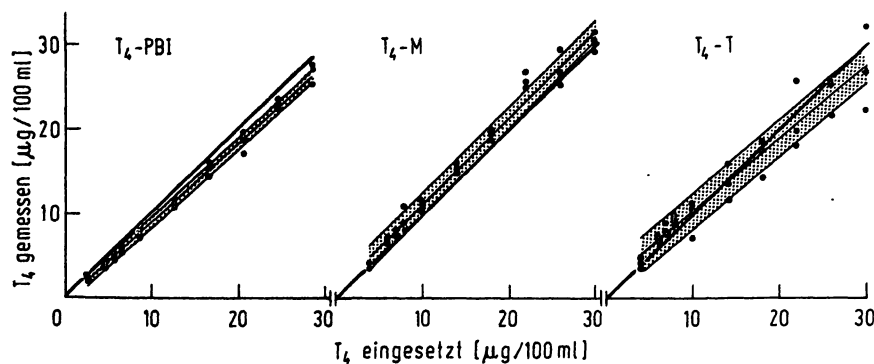
¹⁾ Abt. Klin. Endokrinologie, Dept. Innere Medizin.

²⁾ Institut für Nuklearmedizin, Radiologisches Zentrum.

³⁾ Department Physiologie.

⁴⁾ Abkürzungen: $PB^{127}I$ = proteingebundenes ^{127}Jod ; T_4 = Thyroxin; TBG = Thyroxin-bindendes Globulin; $PB^{131}I$ = proteingebundenes ^{131}Jod ; T_3 = Trijodthyronin.

Abb. 1
Werte zur Richtigkeit von Methoden zur Thyroxinbestimmung; Abscisse: eingesetzte Thyroxinkonzentration; Ordinate: gemessene Thyroxinkonzentration



Mengen an Thyroxin zugesetzt und die beobachteten Resultate den erwarteten Werten gegenübergestellt (s. Abb. 1). Als Maß für die Übereinstimmung bzw. Nichtübereinstimmung der Erwartung mit der Beobachtung dienen neben dem Korrelationskoeffizienten die statistische Prüfung, ob die individuellen Charakteristika der 3 Regressionsgeraden von denen der Idealregression $y = 0 + 1x$ signifikant differieren. In Tabelle 2 sind die individuellen Daten der 3 Regressionsgeraden und der Signifikanzprüfung zusammengestellt.

Tab. 2
Daten zur Beurteilung der Richtigkeit von Methoden der Thyroxinmessung im Serum

	T_4 -PBI	T_4 -M	T_4 -T
r	0,9972	0,9894	0,9632
a	-0,3775	0,7798	1,6538
b	0,9471	1,0436	0,8664
sy · x	0,6246	1,3685	2,1598
$t = \frac{b-1}{Sb}$	$\frac{4,000}{2P < 0,001}$	$\frac{1,6432}{0,20 > 2P > 0,10}$	$\frac{2,9301}{0,01 > 2P > 0,005}$
$t = \frac{a-0}{Sa}$	$\frac{1,8245}{0,10 > 2P > 0,05}$	$\frac{1,5953}{0,20 > 2P > 0,10}$	$\frac{2,1511}{0,05 > 2P > 0,025}$

Aus Abbildung 1 und Tabelle 2 ist zu ersehen, daß sich beim T_4 -PBI eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den erwarteten und den gemessenen Werten ergab. Der Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der y-Achse liegt im negativen Bereich, wobei der Unterschied zum Idealwert $a = 0$ aber nicht statistisch gesichert ist. Die geringe Abweichung der Steigung b von 1 läßt sich sichern, da die Streuung um die Regression sehr klein ist. Es geht hieraus hervor, daß bei der Errechnung des T_4 aus dem PBI gewöhnlich etwas zu niedrige Werte erhalten werden.

Beim T_4 -M liegt ebenfalls eine gute Korrelation vor; der Schnittpunkt der Geraden liegt auf dem positiven Schenkel der y-Achse; b ist etwas größer als 1. Demnach wird man mit der MURPHY-Methode eher etwas zu hohe Werte finden. Obwohl sich b und a von den Idealwerten stärker unterscheiden, sind diese Differenzen infolge der größeren Streuung nicht zu sichern.

Der Korrelationskoeffizient von 0,963 beim T_4 -T ist deutlich niedriger als der der anderen Methoden, die Streuung um die Regression ist gegenüber dem T_4 -PBI

dreifach höher; durch entsprechend signifikant erhöhten Wert von a und signifikant erniedrigten Wert von b weicht die Regressionsgerade in ihrem Verlauf erheblich von der 1:1-Beziehung ab. Hervorzuheben ist, daß sich mit dieser Methode wie mit der ihr entsprechenden MURPHY-Methode im unteren Meßbereich etwas zu hohe Werte ergeben, während ab $15 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ häufig zu niedrige Ergebnisse auftreten.

Aus Abbildung 1 geht weiterhin hervor, daß mit dem T_4 -PBI bis in die höchsten hier eingesetzten Bereiche verlässliche Werte mit geringer Streuung gemessen werden können. Die Grenze der Verlässlichkeit liegt beim T_4 -M bei etwa $20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, beim T_4 -T scheint sie nach diesem Versuch bereits wenig oberhalb von $10 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ erreicht zu sein.

Die Anwendbarkeit der 3 Methoden in der klinischen Routinediagnostik wurde an Seren von 131 euthyreoten, 33 hyperthyreoten und 15 hypothyreoten Patienten geprüft; mit jeder Methode wurde in jedem Serum ein Wert bestimmt. Die Mittelwerte für die einzelnen Bereiche sind in Tabelle 3 dargestellt. Es fällt auf,

Tab. 3
Mittelwerte der Thyroxinkonzentration ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) in Seren von eu-, hypo- und hyperthyreoten Patienten, gemessen mit 3 verschiedenen Methoden

	T_4 -PBI	T_4 -M	T_4 -T
Hypothyreose (n = 15)	$3,04 \pm 2,23$	$2,65 \pm 1,00$	$3,25 \pm 1,51$
Euthyreose (n = 131)	$10,34 \pm 4,53$	$9,33 \pm 2,33$	$8,94 \pm 2,42$
Hyperthyreose (n = 33)	$19,88 \pm 4,19$	$17,52 \pm 3,38$	$16,12 \pm 3,28$

daß in diesem Falle die T_4 -PBI-Ergebnisse nicht zu tief, wie nach Abbildung 1 zu erwarten wäre, liegen, sondern höher als die entsprechenden T_4 -M- und T_4 -T-Werte. Weiterhin ist zu erwähnen, daß der niedrigste Mittelwert im Hyperthyreosebereich mit dem T_4 -T ermittelt wurde. Die Ursache für die relativ hohen T_4 -PBI-Mittelwerte liegt in der Jodkontamination einzelner Seren, die zu Fehlbestimmungen mit dieser Methode führte. Durch Vergleich mit den Ergebnissen der beiden anderen, absolut spezifischen Methoden konnten diese kontaminierten Proben ermittelt werden. Die Seren, in denen der T_4 -PBI-Wert im Hypo- und Euthyreosebereich um mehr

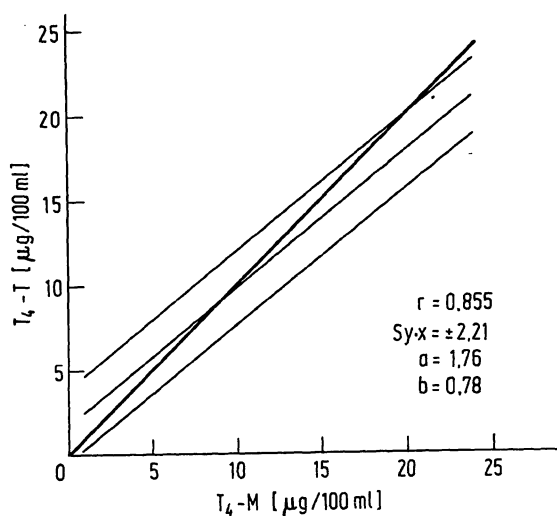


Abb. 2

Daten zur Konzentration von Thyroxin im Serum, gemessen mit den Methoden T_4 -M (Abszisse) und T_4 -T (Ordinate)

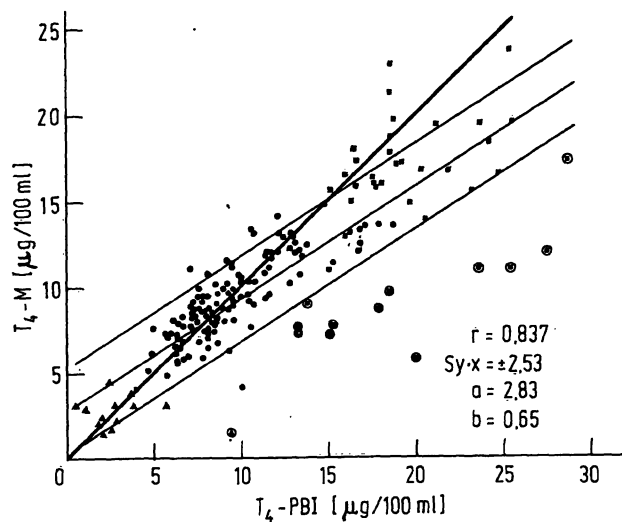


Abb. 3

Daten zur Thyroxinkonzentration im Serum, gemessen mit den Methoden T_4 -PBI (Abszisse) und T_4 -M (Ordinate)

○ kontaminierte Seren; ▲ Hypothyreose; • Euthyreose; ■ Hyperthyreose

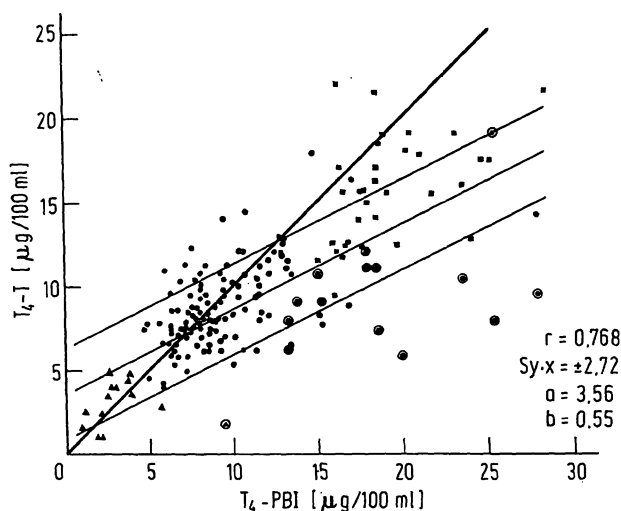


Abb. 4

Daten zur Thyroxinkonzentration im Serum, gemessen mit den Methoden T_4 -PBI (Abszisse) und T_4 -T (Ordinate)

○ kontaminierte Seren; ▲ Hypothyreose; • Euthyreose; ■ Hyperthyreose

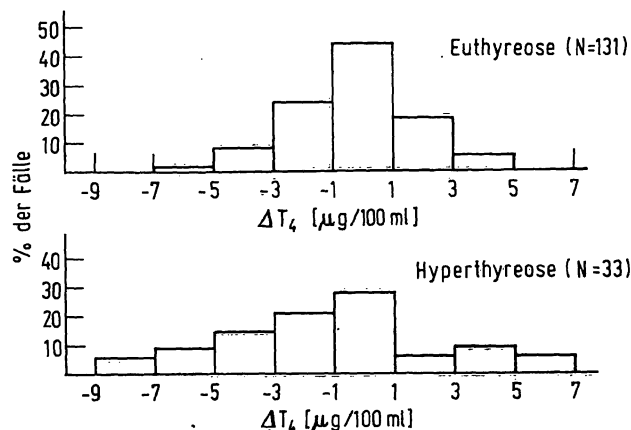


Abb. 5

Differenzen der Thyroxinkonzentrationen (T_4 -T minus T_4 -M), gruppiert und in % der Zahl der in der Euthyreose- bzw. Hyperthyreose-Gruppe gemessenen Werte

als $4 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, im Hyperthyreosebereich um mehr als $8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ gegenüber beiden anderen Ergebnissen lag, wurden als kontaminiert angesehen. 15 Proben = 8,4% des Gesamtkollektivs erfüllten diese Bedingungen!

In den Abbildungen 2, 3 und 4 sind die Beziehungen der 3 Methoden zueinander im Gesamtkollektiv durch die entsprechenden Regressionsgeraden und Korrelationskoeffizienten dargestellt. Die beste Übereinstimmung mit dem höchsten Korrelationskoeffizienten ($r = 0,855$), dem größten Regressionskoeffizienten, der geringsten Streuung um die Regressionsgerade und dem niedrigsten Wert von a ergab sich beim Vergleich der beiden Isotopenverdrängungsmethoden (Abb. 2).

Die mangelhafte Spezifität der Jodbestimmung für die Messung der Thyroxinkonzentration beeinflusst den Vergleich zwischen T_4 -PBI und T_4 -M bzw. T_4 -T (Abb. 3 und 4) entscheidend. Die 15 jodkontaminierten Seren

führten zu einer erheblichen Abweichung der Regressionsgeraden von der 1:1-Beziehung. Bei der Regression T_4 -T auf T_4 -PBI bewirkten die relativ geringe Präzision und Genauigkeit der T_4 -T-Methode eine weitere Reduktion der Korrelation.

Als letztes wurde untersucht, ob für die relativ schlechte Übereinstimmung der beiden spezifischen Methoden in bestimmten Meßbereichen durch Analyse der in der klinischen Routine erhaltenen Ergebnisse eine Ursache zu finden war. Zu diesem Zweck wurde in Abbildung 5 die Größe der Differenz zwischen den jeweiligen Einzelmessungen (T_4 -T minus T_4 -M) ermittelt, gruppiert und in Prozent der Anzahl dargestellt. Im euthyreoten Bereich unterscheiden sich 86% der Fälle um $\pm 3 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Im hyperthyreoten Bereich war die Treppenkurve aber weit nach links verschoben, d. h., daß hier in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle mit der T_4 -T-Methode niedri-

gere Werte als mit dem T_4 -M gemessen wurde. Für den hypothyreoten Bereich werden durchschnittlich etwas zu hohe Werte mit dem T_4 -T angegeben. Ähnliche Verhältnisse ergaben sich beim entsprechenden Vergleich zwischen dem T_4 -PBI und T_4 -T, allerdings waren hierbei die Unterschiede durch den Einfluß der jodkontaminierten Seren noch prononcierter.

Diskussion

Die Bestimmung des *proteingebundenen Jods* bietet den entscheidenden Vorteil eines vollautomatisierten Verfahrens. Etwa 120 Proben können unter den bei uns üblichen Kautelen (Screening zur Erfassung stark jodkontaminierter Proben, Geschwindigkeit von 20 Proben pro Stunde) in etwa 8 Stunden gemessen werden. Die Präzision der $PB^{127}I$ -Bestimmung ist in allen Meßbereichen sehr gut. Die Prüfung der Richtigkeit der Methode zeigte, daß etwas zu niedrige Werte gemessen werden. Nach Beobachtungen in unserem Labor ist erwiesen, daß bei Behandlung des zu messenden Serums mit Amberlite IRA-401 als Ionenaustauscher, nicht nur Jodid dem Serum entzogen wird, sondern auch etwa 5 bis 10% des Thyroxinjodes (5). Bei Analyse der Abbildung 1 ist ersichtlich, daß die Regressionsgerade fast genau um diesen Betrag von der Idealfunktion abweicht. Um die große Probenkapazität der Apparatur voll auszuschöpfen, lohnt sich die Bestimmung des $PB^{127}I$ in großen Krankenhäusern mit entsprechender endokrinologischer Abteilung. Der *gravierende Nachteil* der Methode liegt in ihrer *mangelhaften Spezifität*. Immerhin hätten sich in unserem Kollektiv bei alleiniger Diagnostik durch die PBI-Bestimmung 15 klinisch-chemische Fehldiagnosen = 8,4% ergeben. 14 tatsächlich euthyreote Patienten wären als hyperthyreot, 1 hypothyreoter Patient als euthyreot angesehen worden.

Die MURPHY-PATTEE-Methode ist hinsichtlich der Präzision der PBI-Bestimmung eindeutig unterlegen. Die Streuung um den Mittelwert als Maß der Präzision lag bei wiederholten Bestimmungen eines Euthyreose-Poolserums mit $7,7 \mu\text{g}/100 \text{ ml} \pm 0,6$ im gleichen Bereich wie von anderen Autoren mitgeteilt (MURPHY (3): $7,2 \mu\text{g}/100 \text{ ml} \pm 0,7$, SIERBAEK-NIELSEN (4): $8,0 \pm 0,9$, ARANGO (6): $7,4 \pm 0,4$). Für den hyperthyreoten Bereich werden auch von diesen Autoren deutlich größere Standardabweichungen angegeben. Die Richtigkeit der MURPHY-PATTEE-Methode erfüllt mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,989$ die üblichen Anforderungen an ein klinisch-chemisches Verfahren. Ihre Bestimmungskapazität liegt in dem von uns ermittelten Ablauf bei 100 Seren/5 Stunden, entspricht also etwa der Leistungsfähigkeit der PBI-Bestimmung. Allerdings erfordert diese hohe Anzahl konzentriertes und sorgfältiges Arbeiten während der gesamten Zeit. Erreicht werden kann diese Kapazität weiterhin nur durch Konstruktion einer leistungsfähigen Abdampfvorrichtung (48 Proben) und durch weitgehenden Gebrauch halbautomatischer, hinreichend genauer Pipetten (Reproduzierbarkeit besser als 0,5%). Genaue Kenntnis der Fehlermöglichkeiten

und Erfahrungen im Umgang mit der zu verwendenden Radioaktivität sind weitere Voraussetzungen für einen befriedigenden Einsatz der MURPHY-PATTEE-Methode. Der in unserem Patientenkollektiv zwischen T_4 -PBI und dem T_4 -M errechnete Korrelationskoeffizient von 0,837 stimmt fast genau mit einer von MURPHY (7) anhand von 300 Vergleichsbestimmungen ermittelten Korrelation von $r = 0,823$ überein. Unter diesen 300 Fällen befanden sich 40 jodkontaminierte (= 13,3%) Seren, die in die Berechnungen eingingen.

Hinsichtlich der Beurteilung der Anwendbarkeit der MURPHY-PATTEE-Methode gilt im Prinzip das gleiche, wie für die PBI-Bestimmung: Nur für Laboratorien mit großem Probenanfall ist der Aufbau dieser Methode lohnend, aber wegen der hohen Spezifität für Thyroxin und des gegenüber dem kommerziellen Tetrasorb-Test mindestens 40- bis 50fach niedrigeren finanziellen Aufwandes für eine Bestimmung auch empfehlenswert.

Der kommerzielle *Tetrasorb-Test* erwies sich in dieser Untersuchung sowohl im standardisierten Testprogramm als auch bei der Anwendung in praxi hinsichtlich Präzision und Richtigkeit den beiden anderen Tests unterlegen. Allerdings muß erwähnt werden, daß die Methode von uns auch in Bereichen verglichen wurde, in denen nach Empfehlung der Herstellerfirma Angaben über einen präzisen Wert unterbleiben sollten. Die Standardkurve des Tests verläuft zwischen 0 und $12 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ fast geradlinig, oberhalb dieses Wertes flacht sie aber immer mehr ab und zeigt oberhalb von $20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ nur noch eine sehr geringe Steigung, so daß Werte über $20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ prinzipiell nicht abgelesen werden sollten. Gegenüber der MURPHY-Methode verläuft die standardisierte Stammkurve des Tetrasorb-Tests *insgesamt* aber sehr viel flacher. Die mangelnde Präzision der Methode könnte auf die fehlende Steilheit der Stammkurve zurückgeführt werden, bei der geringe Unterschiede in den gemessenen counts zu größeren Differenzen in den abgelesenen Ergebnissen Anlaß geben. Neben diesem vielleicht methodischen Fehler können natürlich Ungenauigkeiten bei der technischen Durchführung das Vergleichsergebnis zuungunsten der T_4 -T-Methode verschoben haben, zumal von anderen Autoren sehr gute Korrelationskoeffizienten bei Vergleich zwischen T_4 -PBI und T_4 -T mitgeteilt werden. So ermittelten KENNEDY und ABELSON (8) einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,92$ bei Vergleich von 34 Fällen, KAPLAN (9) ein r von 0,88, wobei keine Angabe über die Fallzahl gemacht wurde. Nähere Einzelheiten über Meßbereiche und Einschluß jodkontaminierter Seren in die Berechnung dieser Korrelationen waren nicht zu ersehen.

Die maximale Kapazität der T_4 -T-Methode liegt bei etwa 40 Proben/5 Stunden. Bedingt durch die lange Inkubationszeit von 1 Stunde und das zweimalige Zählen jeder Probe sowie durch die relativ umständliche mitgelieferte Abdampfvorrichtung läßt sich die Kapazität der beiden anderen Methoden nicht erreichen. Ein Nachteil der T_4 -T-Methode ist auch der hohe Preis, der

in keinem Verhältnis zu den Kosten der beiden anderen Verfahren steht.

Der Vorteil des kommerziellen Testes liegt in der von der Firma bereits standardisierten Handhabung. Alle Geräte, Lösungen, Reagenzien und die fertige Standardkurve können kommerziell bezogen werden. Zur Ausführung des Tests ist praktisch nur ein entsprechendes

Zählgerät erforderlich. Aus diesem Grunde ist der Test für Laboratorien mit geringem Probenanfall oder solchen, in denen Thyroxinbestimmungen nur sporadisch erforderlich werden, geeignet, wenn die oben gegebenen Hinweise auf die Präzisionsschwäche im hohen Thyroxinbereich stets berücksichtigt werden.

Literatur

1. EKINS, R. P., Clin. Chim. Acta, Amsterdam 5, 453 (1960). —
2. MURPHY, B. E. P. und C. J. PATTEE, J. Clin. Endocrin., Springfield 24, 187 (1964). — 3. MURPHY, B. E. P. und C. JACHAN, J. Laborat. Clin. Med. S. Louis 66, 161 (1965). — 4. SIERSBAEK-NIELSEN, K., Acta med. scand. 181, 327 (1967). — 5. KÖDDING, R. und H. L. KRÜSKEMPER, diese Z. 8, 425 (1970). — 6. ARANGO, G.,
- W. E. MAYBERRY, T. J. HOCKERT und L. R. ELVEBAEK, Mayo Clin. Proc. 43, 503 (1968). — 7. MURPHY, B. E. P., C. J. PATTEE und A. J. GOLD, J. Clin. Endocrin., Springfield 26, 247 (1966). —
8. KENNEDY, J. A. und D. M. ABELSON, J. Clin. Path. London 20, 89 (1967). — 9. KAPLAN, B. C., persönl. Mitteil. an Abbott-Laboratories (1967).

Anschrift¹⁾:
Abt. Klin. Endokrinologie
Dept. Innere Medizin
3000 Hannover
Podbielskistr. 380